Aus der Augenklinik und -poliklinik des Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H. Hager

Untersuchungen über den Lysozymspiegel der Tränenflüssigkeit am gesunden und kranken Auge

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Janke
aus Leipzig

1973

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552709_0018

Aus der Augenklinik und -poliklinik des Klinikum Steglitz
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. H. Hager

Untersuchungen über den Lysozymspiegel der Tränenflüssigkeit am gesunden und kranken Auge

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wolfgang Janke
aus Leipzig

Referent: Professor Dr. H. Tiburtius

Korreferent: Priv.-Doz. Dr. O. Liegl

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 13. Nov. 1973

Druck: Der Präsident der Freien Universität Berlin – Zentrale Universitätsdruckerei V aA 7, 1 Berlin 41

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	2
B. Methode und Material	5
1.0. Das verwendete Nachweisverfahren	5
1.1. Material	6
C. Ergebnisse	
2.0. Untersuchungen mit Standardkonzentrationen	7
2.1. Abhängigkeit der Lysis des Micrococcus Lysodeicticus von der Inkubationstemperatur	8
2.2. Abhängigkeit der Lysis von der Inkubationszeit	8
3.0. Untersuchungen an Augengesunden Abhängigkeit der Lysis vom Alter	10
3.1. Tageszeitliche Schwankungen	11
3.2. Der Lysozymgehalt der Tränen bei verschiedenen Irritationen	12
3.2.1. Irritation mit Zwiebeln	12
3.2.2. Irritation mit Zigarettenrauch	13
3.2.3. Irritation mit Bisolvonaugentropfen	13
3.2.4. Irritation mit Tränengas	13
3.3. Wöchentliche Vergleichsteste	14
4.0. Untersuchungen an Probanden mit Augenaffektionen Lysozymkonzentrationen bei Conjunctivitiden	15
4.1. Untersuchungen bei Conjunctivalabstrichen mit Wachstum von Staph. albus und Staph. aureus	16
4.2. Lysozymaktivität der Tränen bei Vermehrung der neutrophilen, polymorphkernigen Granulocyten absolut	18
5.0. Diskussion	20
D. Zusammenfassung	24
E. Literaturverzeichnis	25
F. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	29

A. Einleitung

Lysozym ist heute eines der am besten erforschten Enzyme. Schon am 12. Februar 1922 berichtete SIR ALEXANDER FLEMING in einem Vortrag "On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions" vor der Royal Society of Ophthalmology über diesen Stoff, den er im Nasenschleim entdeckte. Er beobachtete bei ihm eine bakteriolytische Wirkung, die sich besonders gegen den Micrococcus lysodeicticus richtete.

In der Folgezeit war das Lysozym noch Thema vieler Veröffentlichungen.
1927 gelang es erstmals, eine geringe Menge Lysozym rein zu gewinnen. WOLFF extrahierte es aus Hühnereiweiß. Im Jahre 1946 konnten ALDERTON und FEVOLD Lysozym aus Hühnereiweiß kristallin gewinnen.
JOLLES und CANFIELD fanden dann 1963, unabhängig voneinander, die Primärstruktur, und nur zwei Jahre später beschrieb DAVID PHILLIPS den dreidimensionalen Aufbau des Lysozyms.

SALSER et al. und GESTELAND et al. zeigten 1967 in vitro die Synthese aktiver Bakteriophagenlysozymmoleküle. Im selben Jahr konnten sie auch das Gen bestimmen, welches diese Synthese auslöst.
TSUGITA et al. waren 1968 in der Lage nachzuweisen, daß es sich bei diesem in vitro gewonnenen Lysozym um ein stark basisches Protein, gleich dem natürlichen Produkt handelt.

1969 veröffentlichten W. SALSER, R. GESTELAND und B. RICARD ihre Arbeit über "The mechanism of protein synthesis", die ebenso wie die Arbeit "Mechanism of Lysozym action" von CHIPMAN und SHARON weiter dazu beitrugen, Klarheit über Struktur und Funktion des Lysozyms zu bringen.

Es ist also bekannt, daß es sich beim Lysozym oder N-acetylmuramid-glykanolhydrolase um ein basisches Protein handelt, mit dem IEP bei pH 11 und dem MG 14500.

Über die biologische Rolle allerdings scheinen die Meinungen noch zu divergieren.

FLEMING konnte damals die bakteriolytische Wirkung aufzeigen. Die immunologische Bedeutung des Lysozyms als unspezifischer Abwehrstoff wurde 1940 von THOMSON und 1958 von SCHUMACHER erkannt.
Differenzierte Arbeiten haben ergeben, daß besonders die grampositiven Bakterien lysozymsensibel sind. Aber auch die gramnegativen besitzen in ihrem Wandaufbau dieses lysozymsensible Enzymsubstrat, nur ist es wie PETERSON und HARTSELL 1954 zeigten gewissermaßen maskiert.

EAGON und CARSON fanden 1965, daß eindringende Keime durch Lysozym sofort in ihrer Entwicklung gehemmt werden. Durch die Oberflächenaktivität unterstützt werden die Keime wahrscheinlich fixiert und dadurch eine Phagocytose erleichtert.

Außerdem berichtet SCHUMACHER 1958, daß sofort nach Kontakt der Bakterien mit dem Lysozym eine Hemmung ihrer Atmungsfermente am Anstieg der Bakterienkatalase zu beobachten sei.

DAVID M. CHIPMAN und NATAN SHARON vermuten, daß die Aufgabe des Lysozyms in vivo eher die Verdauung der Glykopeptidbruchstücke der Bakterienzellwände ist, die durch andere Ursache abgetötet wurden. Es wirke wahrscheinlich derart, daß es die Zellwandoligosaccharide bis hinunter zu den Di- und Tetrasaccharidbausteinen hydrolisiere.
Wie SCHUMACHER 1958 zusammenfassend schreibt, kommt Lysozym normalerweise in fast allen Körpersäften vor, ausgenommen Kammerwasser, Linse und Glaskörper.

Besonders reichlich ist Lysozym in der Tränenflüssigkeit anzutreffen, weshalb sie sich ausgezeichnet als Objekt zur quantitativen Bestimmung der Lysozymaktivität eignet.

In der Vergangenheit sind zwar in Arbeiten, die sich mit der Konzentrationsbestimmung des Tränenenzyms bei Augengesunden und auch bei verschiedenen Affektionen beschäftigten, interessante Ergebnisse erzielt worden, dennoch blieben viele Vermutungen und Fragen offen.

Die bisher verwendete Technik war oft nur sinnvoll für die Forschung, in vorliegender Untersuchung soll jedoch mit einem

Verfahren gearbeitet werden, das von BONAVIDA und SAPSE als für die "Praxisroutine geeignet" herausgestellt wurde.

Hier soll festgestellt werden, in welchem Maße Lysozym durch Temperatur, Inkubationszeit oder Arg.-nitr. beeinflußt werden kann, ob eine Altersabhängigkeit besteht und wie sich dieses Enzym bei männlichen und weiblichen Individuen verhält.

Außerdem soll die Frage geklärt werden, inwieweit ein circumdianer Rhythmus der Enzymaktivität vorhanden ist und wie sich der Tränenlysozymspiegel bei Augengesunden verhält, die verschiedenen Irritationen ausgesetzt sind.

Bei einer weiteren Untersuchungsgruppe wollen wir Probanden mit Augenaffektionen, d. h. solche mit Conjunctivitiden oder Staphylococcusinfektionen, untersuchen.

Da bei Patienten mit leukämischen Erkrankungen erhöhte Muramidasewerte im Serum gefunden wurden, die höchsten bei Monocytenleukämien, aber auch erhöhte Werte bei chronischen Myelosen, interessierte uns bei diesen Patienten der Muramidase - (Lysozym-)Gehalt der Tränenflüssigkeit.

Unsere Untersuchungen erstrecken sich besonders auf Patienten mit einer Vermehrung der neutrophilen, polymorphkernigen Granulocyten.

B. Material und Methode

1.0. Das verwendete Nachweisverfahren

Um die Lysozymkonzentration, z. B. in der Tränenflüssigkeit zu bestimmen, hat sich in der Praxis neben einer Reihe anderer Methoden, die alle sehr aufwendig sind, der Nachweis mit der Diffusionsplatte bewährt.

Man verwandte z. B. die Messung der Atmung von Bakterien unter Lysozymeinfluß, Viskositätsteste, Mikroelektrophorese und den Nachweis von fluoreszeinmarkierten Antilysozym-Antikörpern etc.

Das bei dieser Arbeit benutzte Verfahren geht zurück auf den Lysozymnachweis von OSSERMAN und LAWLOR 1966, der von GROSS-GEBAUER und LANGMAACK 1968 nur wenig modifiziert wurde. In diesem Falle diente der überaus empfindliche Micrococcus lysodeicticus als Indikatorkeim.

Auf Diffusionsböden wurden die aus Lackmuspapier bestehenden Testplättchen, mit den Abmessungen 4 x 4 Millimeter aufgebracht. Die Plättchen, vollgesaugt mit Tränenflüssigkeit, wurden von modifizierten Schirmer-Teststreifen (Kantenlänge: 5 x 0,4 cm) abgeschnitten. Das Einlegen des Teststreifens in den Conjunctivalsack erfolgte wie beim Schirmer-Test. Entfernt wurde er, wenn die Tränendiffusion einen Zentimeter auf dem herausragenden Teil fortgeschritten war.

Auf jedem Agaroseboden hatten immer acht Testplättchen Platz. Für jedes notierten wir den Abnahmezeitpunkt und das Ablesen erfolgte jeweils nach 24 Stunden. Das Enzym diffundiert in das Medium und lysiert dort den Indikatorkeim. Es entsteht ein heller, transparenter Hof um das Testplättchen auf der an sich trüben Lysoplatte (Abb. 1).

Mit einem Stechzirkel bestimmten wir bei jedem Lysishof zwei Durchmesser in Millimetern und verwandten den Mittelwert.

Als Kontrolle lief bei jedem Test ein Plättchen mit der Standardkonzentration St_1 = 5000 µg/ml mit. Aus einer Testserie mit

abgestuften Standardkonzentrationen und den dazugehörigen Lysishöfen in Millimetern entwickelten wir eine Kurve, durch die wir von den erzielten Durchmessern direkt auf die Konzentration des Enzyms schließen konnten.

1.1. Material

Die Tränenflüssigkeit stammt von Patienten der Augenklinik und Augen-Poliklinik des Klinikum Steglitz der FU Berlin (Dir. Prof. Dr. Hager). Patienten: Tab. Nr. 1.
Bei den Diffusionsplattenhandelt es sich um in Petrischalen gefüllte 2 % Agarose, gemischt mit hitzeabgetötetem Micrococcus lysodeicticus als Indikatorkeim.

Das für unsere Standardkonzentrationen verwendete Lysozym ist kommerzielles, kristallines Enzym der Firma Serva, Heidelberg.

Als Irritationsmittel hatten wir Zwiebeln, Zigarettenrauch, Bisolvon-Augentropfen 1 % und 2 % der Firma Thomae, kommerzielles Tränengas in Patronen für Pistolen sowie Arg.-nitr. 1 % ausgewählt.

C. Ergebnisse

2.0. Untersuchungen mit Standardkonzentrationen

Zur quantitativen Bestimmung des Lysozyms benutzten wir den Plättchentest mit standardisierten Vergleichskonzentrationen.

Die Plättchen wurden auf die Diffusionsböden gebracht und 24 Stunden bei Zimmertemperatur (22-24 ^{o}C) inkubiert.

In einer Testreihe bestimmten wir die Flüssigkeitsmenge, die von unseren Plättchen aufgesaugt werden konnte, zu dem Zeitpunkt, da die Diffusion gerade bis zur Streifenmarkierung "ein Zentimeter" fortgeschritten war.

Als Testsubstanz verwendeten wir Lysozymlösungen der Konzentration 5000 µg/ml.

Unsere Streifen brachten wir mit 0,10 ml; 0,05 ml; 0,025 ml; 0,01 ml und 0,005 ml Lösung in Kontakt. Wir fanden, daß die Plättchen ein Fassungsvermögen von 0,01 ml hatten.

Da wir den Standard (St_1) = 5000 µg/ml benutzten, enthielt ein Plättchen also 50 µg Lysozym (50 µg/0,01 ml; bei St_2 = 2500 µg/ml ≙ 25 µg/0,01 ml etc.).

Im anschließenden Versuch arbeiteten wir mit Lysozymlösungen folgender Konzentrationen:

(St = Standardkonzentration)

St_1	5000 µg/ml
St_2	2500 µg/ml
St_3	1250 µg/ml
St_4	625 µg/ml
St_5	312 µg/ml

Aus der in unseren Plättchen enthaltenen Lysozymmenge und den resultierenden Lysishöfen konnten wir eine Kurve entwickeln. Sie wurde durch die Gleichung $y = 2{,}441 \times 2^{x}$ beschrieben.

Auf semilogarithmischen Papier gab die Ordinate die Konzentrationen in Mikrogramm pro Millimeter an und die Abszisse die Lysisdurchmesser in Millimeter (Tab. 2; Abb. 2).

Unsere erzielten Lysishöfe reichten von elf bis sieben Millimeter in absteigenden Schritten von jeweils einem Millimeter. Die Schwankungsbreite lag bei $\pm$ 0,2 mm.

Durch dieses Verfahren gelangten auch BONAVIDA und SAPSE 1968 zu ihren Lysozymmengenangaben in der Tränenflüssigkeit.

2.1. Abhängigkeit der Lysis des Micrococcus Lysodeicticus von der Inkubationstemperatur

Um zu klären, ob wir bei Zimmertemperatur inkubieren können oder einen Inkubator verwenden müssen, wurden die Platten mit den Standardkonzentrationen zur gleichen Zeit bei verschiedenen Temperaturen bebrütet.

Wie Tabelle 3 zeigt, waren geringe Unterschiede bei den Lysishöfen der bei Zimmertemperatur (22^{o} - 24^{o}) und 32^{o} (Inkubator) inkubierten Böden zu erkennen. Die Lysishöfe der Standardkonzentrationen lagen bei fünf Kontrollmessungen durchschnittlich um 0,5 mm höher, als bei den mit 24 ^{o}C bebrüteten Plättchen. Für jeden Wechsel der Inkubationstemperatur muß also eine neue Standardkurve angelegt werden.

Die bei + 4 ^{o}C für 24 Stunden im Kühlschrank verwahrte Platte hatte keine Lysishöfe ausgebildet.

Bei dieser Diffusionsplatte war es aber am folgenden Tage möglich, durch Bebrüten bei Zimmertemperatur das gleiche Ergebnis zu erzielen, wie bei den nicht gekühlten (siehe auch BONAVIDA 1968).

2.2. Abhängigkeit von der Inkubationszeit

Bei den folgenden Versuchen ging es darum, herauszufinden, inwieweit es sinnvoll erscheint, von der üblichen 24 h Bebrütungszeit abzuweichen.

Außerdem sollte geklärt werden, wie lange die Lysis fortschreitet.

Dazu wurden die bei Zimmertemperatur verwahrten Platten jeweils nach 6 h, 24 h, 48 h und 72 h abgelesen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 aufgezeichnet.

Es zeigte sich, daß die Lysishöfe nach 6 h noch nicht weit genug ausgeprägt erschienen andererseits aber nach 48 h die vergrößerten Höfe nicht mehr zur Ablesegenauigkeit beitrugen. In jedem Fall schritt die Lysis bis zur vollständigen Aufhellung der Platte fort.

Auch diese Versuchsreihe, die wir fünfmal wiederholten, ergab, daß wir für die verschiedenen Ablesezeiten jeweils eine neue Standardkurve aufstellen müssen.

Die Schwankungen im Bereich von 6 h und über 24 h-Inkubationszeit waren größer als erwartet, und so entschieden wir uns bei unseren folgenden Messungen für eine Inkubation von 24 h und 22^{o} bis 24 ^{o}C.

3.0. Untersuchungen an Augengesunden
Abhängigkeit der Lysis vom Alter

Von den Autoren, die sich mit den Tränenlysozymkonzentrationen beschäftigten, meinte schon ELLEN REGAN 1950, daß keine Korrelation zwischen Alter der Probanden und Lysozymgehalt bestünde. SCHUMACHER berichtet 1958 in seiner Zusammenstellung aller bis dahin bekannten Lysozymveröffentlichungen: "Alter, Geschlecht, Rasse und Tageszeit sollen keine Rolle spielen".

1968 erklärten BONAVIDA und SAPSE, daß ihrer Erfahrung nach extrem junge und sehr alte Personen eine Tendenz zu Werten im untersten Normalbereich hätten.

Die Untersuchungsergebnisse der vorliegenden Arbeit zur Altersabhängigkeit wurden an 127 Augengesunden gewonnen. Es standen uns also für diese Untersuchungsreihe 254 Augen zur Verfügung. Zu jedem Test lief ein Plättchen Nr. 1 = 5000 µg/ml mit. Die Schwankungsbreite der Lysishofdurchmesser betrug durchschnittlich 10,7 $\pm$ 0,3 mm. Die Testgruppen reichen von wenige Tage alten Neugeborenen bis zum achten Dezenium. Das Tränenlysozym wurde jeweils zwischen 9 und 15 Uhr gewonnen.

Bei den Messungen ergab sich eine mittlere Abnahmedauer von ca. 1 Minute, um bei der Tränendiffusion im Teststreifen die Einzentimetermarke am herausragenden Teil zu erreichen.

Für die Neugeborenen war Bedingung, daß das "Rote Auge", aufgetreten nach der Geburt durch appliziertes Arg.-nitr. 1 %, abgeklungen war. Wie aus Tabelle 5 und 6 ersichtlich wird, hat zwar das Arg.-nitr. keinen Einfluß auf die Lysozymaktivität, doch wollten wir vermeiden, in der Gruppe der Augengesunden, z. B. eine vorgetäuschte bakterielle Infektion zu haben.

Die einzelnen Meßwerte der verschiedenen Altersgruppen sind in der nachfolgenden Tabelle wiedergegeben (Tab. 1).

Sie lassen die Beurteilung zu, daß der Lysozymgehalt der Tränenflüssigkeit unabhängig ist vom Alter und auch die extrem jungen bzw. alten Individuen darin keine Ausnahme bilden (Abb.3).

3). Die Untersuchungen legen auch dar, daß kein bemerkenswerter Unterschied zwischen rechtem und linkem Auge besteht.

Dieses Ergebnis deckt sich auch mit dem von SCHUMACHER 1958.

Für unsere Probanden ohne Augenaffektionen fanden wir einen Mittelwert von 9,48 mm ± 0,4 mm, entsprechend 1700 ± 600 µg/ml. BONAVIDA und JAPSE fanden 1968 einen Mittelwert von 1700 µg/ml bei augengesunden Personen.

Durch die Untersuchungen machten wir die Erfahrung, daß die weiblichen Individuen (Tab. 7 und Abb. 4) eine geringe Tendenz zu den niedrigeren Werten zeigten. Ihre Lysishofdurchmesser überwogen prozentual im Bereich mit acht und neun Millimeter, während die männlichen Probanden bei den Werten über neun Millimeter dominierten.

Von Interesse war für uns auch, ob sich der im Serum von Neugeborenen vorhandene hohe Lysozymspiegel, wie er von COFFIN et al. 1960 und von GROSSGEBAUER und LANGMAACK 1968 beschrieben wird, auch in der Tränenflüssigkeit wiederfinden ließe. Unsere Ergebnisse, die an zwölf augengesunden Neugeborenen gewonnen wurden, zeigen, daß sich zumindest in den Tränen kein Unterschied zu den Lysozymmengen der anderen Altersgruppen nachweisen läßt (Tab. 1 und Abb. 5).

3.1. Tageszeitliche Schwankungen

Bisher wurde von einigen Autoren (SCHUMACHER 58) vermutet, daß keine Abhängigkeit der Lysozymkonzentration von der Tageszeit bestehe, es lägen aber keine systematischen Untersuchungen vor. ELLEN REGAN deutete aber in ihrer Arbeit über den Lysozymgehalt der Tränen an, daß tageszeitliche Schwankungen möglich wären.

Durch die Beobachtung von acht Testpersonen, die sich für 24 h zur Verfügung stellten, haben wir den Versuch unternommen, den circumdianen Konzentrationsverlauf aufzuzeichnen.

Dazu mußte alle drei Stunden mit dem Streifentest Tränenflüssigkeit gewonnen werden.

Die Probanden waren sechs, elf, achtzehn, 23, 26, 42, 51 und 56 Jahre alt und wurden jeweils in ihrer gewohnten Umgebung untersucht. Sie behielten auch ihren Schlaf-Wach-Rhythmus bei, der lediglich durch den Test für einige Minuten unterbrochen war.
In der Zeit zwischen 24 Uhr und vier Uhr dauerte die Tränendiffusion durchschnittlich drei Minuten. Beim Vergleich des Zeitraums 13 bis 19 Uhr mit dem von 7 bis 13 Uhr (Tab. 8) fällt auf, daß die Lysozymaktivität in den Vormittagsstunden um ca. 50 % höher liegt als in den Nachmittagsstunden.

Durchschnittlich erreichten die Versuchspersonen in den Nachmittagsstunden Konzentrationen von 800 µg/ml, während der Nacht 1500 µg/ml, die höchsten Lysishöfe ergaben sich am Vormittag mit 1900 µg/ml.

In den Nachtstunden erfolgte also ein langsamer Anstieg der Lysozymkonzentration.

3.2. Der Lysozymgehalt der Tränen bei verschiedenen Irritationen

Einige Autoren (BONAVIDA, SAPSE, E. REGAN, SCHUMACHER) beschrieben eine Senkung des Lysozymspiegels der Tränen bei Affektionen des Auges, die mit stärkerem Tränenfluß verbunden waren.

Wir versuchten nun, eine künstliche Epiphora durch verschiedene Irritationsmittel zu erreichen und das Verhalten des Lysozyms unter diesen Bedingungen zu beurteilen.

Als Reizstoffe verwandten wir frische Zwiebeln, Zigarettenrauch, Bisolvon-Augentropfen 1 % und 2 % der Firma Dr. Karl Thomae, sowie Tränengas.

3.2.1. Irritation mit Zwiebeln

Die Irritationen mit Zwiebeln, die wir an acht Personen nach einer Einwirkzeit von fünf Minuten prüften, erbrachte Lysozymkonzentrationen, die sich von denen ohne Epiphora nicht unterschieden (Tab. 9).

3.2.2. Irritation mit Zigarettenrauch

Ähnlich gingen wir auch beim Reizversuch mit Zigarettenrauch vor. Dabei wurde durch ein Röhrchen der Rauch direkt in den Conjunctivalsack gelenkt und fünf Minuten nach Einsetzen des Tränenstromes der Streifentest gemacht. Tabelle 9 veranschaulicht die an fünf Personen gewonnenen Lysozymkonzentrationen.

Die Werte zeigen, daß Rauch ein kräftiges Irritationsmittel ist und in vier Fällen zu einem Abfall der Lysozymkonzentration führte.

Der Rückgang betrug zwischen 800 µg/ml und 1900 µg/ml. Bei einem Augenpaar zeigte sich keinerlei Veränderung.

3.2.3. Irritation mit Bisolvon-Augentropfen

Wie bei den vorhergehenden Versuchen, so prüften wir auch beim Bisolvon (1 % und 2 %)-Test die Lysozymmenge der Tränen erst ohne Reizstoff (O-Wert).
Der erste Test nach Bisolvon 1 %-Gabe erfolgte nach fünf Minuten, der zweite nach einer Stunde (Tab. 9).

Aus den dabei erhaltenen Ergebnissen, ebenso wie aus denen mit Bisolvon 2 % gewonnenen läßt sich keine Verminderung der Tränenlysozymmenge bei/nach Epiphora nachweisen. Eher kann man die Werte dahingehend interpretieren, daß nach Gabe dieser Augentropfen nach fünf Minuten ein geringer Anstieg der lysozymalen Aktivität (500 bis 1000 µg/ml) erfolgt ist, der auch noch eine Stunde später nachweisbar bleibt.
Für diese Testreihe hatten wir sechs Personen, also insgesamt zwölf Augen, zur Verfügung.

3.2.4. Irritation mit Tränengas

Der Tränengasversuch erfolgte nach Messung des Leerwertes in einem Raum von ca. 6 m^3 Inhalt und wurde mit einer Tränengaspistole durchgeführt.

Mein besonderer Dank gilt in diesem Zusammenhang den Mitarbeitern der Augenpoliklinik des Klinikum Steglitz, die sich

freundlicherweise für die Tränengasversuche zur Verfügung stellten.
Die sechs Kandidaten setzten sich etwa zwei Minuten der Reizwirkung aus, dann wurde der Teststreifen eingelegt.

Durch das sehr stark wirkende Reizmittel benötigten wir lediglich ca. sieben Sekunden für die Tränenabnahme. An drei Augenpaaren ließ sich eine Abnahme der Enzymaktivität nachweisen, die 50 % und mehr ausmachte (Tab. 10).

Bei zwei weiteren Probanden erhielten wir einen Rückgang nur an jeweils einem Auge um 50 %. Eine Testperson zeigte keinerlei Veränderungen.

3.3. Wöchentliche Vergleichsteste

Über einen Beobachtungszeitraum von einem Monat kontrollierten wir die Lysozymkonzentrationen an einem Kollektiv von zehn Personen, in einem Abstand von jeweils einer Woche. Eine abschließende Untersuchung erfolgte noch einmal nach einem weiteren Monat.

Die durch den Test gewonnenen Werte beweisen, daß sich an gleichen Individuen die Ergebnisse, mit geringer Schwankungsbreite, durchaus reproduzieren lassen (Tab. 11).

Die Seitendifferenzen lagen im allgemeinen bei ca. 0,5 mm. In einem Fall registrierten wir bei der wöchentlichen Messung einen Rückgang von 11 mm auf 10 mm, entsprechend einer Abnahme von 5000 µg/ml auf 2500 µg/ml.

Durchschnittswerte ergeben beim Vergleich der wöchentlichen Kontrollen keine Änderung der Lysozymaktivität bei den einzelnen Testpersonen.

BONAVIDA und SAPSE schrieben dazu 1968, "daß die Lysiszonen meistens identisch waren mit einer Standardabweichung von 0,3 mm".

4.0. Untersuchungen an Probanden mit Augenaffektionen

Lysozymkonzentrationen bei Conjunctivitiden

In acht Fällen von akuter Conjunctivitis untersuchte ELLEN REGAN das Verhalten des Tränenlysozyms. Sie beschreibt in ihrer Arbeit "The lysozym content of tears" in diesen Fällen eine Tendenz zu niedrigen Werten oder Werten, die an der unteren Grenze der normalerweise auftretenden lagen. Sie gewann den Eindruck, daß die niedrigen Werte bei stärkerer Epiphora angetroffen werden könnten.

Interessant war in diesem Zusammenhang ebenfalls die Feststellung von MOHRIG und MESSNER, die sich auch auf SCHUMACHER berufen können, "daß die beim Menschen nach überdosierter Sonnen- oder UV-Bestrahlung verstärkt auftretenden Conjunctivitiden durch eine Inaktivierung des Lysozyms im Conjunctivalsack erklärt werden".

Wir untersuchten das Lysozym an insgesamt zwanzig Patienten der Augenklinik und Augenpoliklinik, die eine Conjunctivitis hatten. Zur Verfügung standen uns also 40 Augen mit einer chronischen oder allergischen Conjunctivitis oder einer Conjunctivitis epidemica.

Auch hier waren wieder alle Altersgruppen vertreten. Die fünf weniger als ein Jahr alten Kinder, die uns freundlicherweise von der Geburtshilf. Gyn. Klinik des Klinikums Steglitz der FU Berlin (Dir.: Prof. Dr. Hörmann) überlassen wurden, haben wir gesondert betrachtet. Bei den erwachsenen Patienten (Tab. 12, Abb. 6) erreichten die Lysishöfe zum größten Teil Bereiche, die gering über den Normalwerten lagen.

Für die 30 Augen der Erwachsenen mit Conjunctivitiden ergab sich ein mittlerer Lysishofdurchmesser von 9,63 Millimeter = 1900 µg/ml, für Augengesunde (s. S. 10) 9,48 Millimeter ± 0,4 mm. Alle Patienten waren mit Aquamycetin, Prednison, Scherufluron oder Kanamytrex oder Kombinationen anbehandelt.

In der Literatur sind noch keine verläßlichen Angaben über den Einfluß dieser Stoffe auf das Lysozymverhalten vorhanden.

Lediglich L. L. AVERYANOVA, Moscow, untersuchte den Einfluß von Penicillin und Tetracyclinen auf Blut- und Speichellysozyme. Sie fand einen anfänglichen, zeitweiligen Anstieg des Lysozymspiegels, der beim Penicillin ausgeprägter war als bei den Tetracyclinen.

Es ist denkbar, daß man diese Ergebnisse auch auf das Tränenlysozym übertragen könnte. Auch andere Antibiotika, wie Aquamycetin und Kanamytrex lassen es nach den russischen Untersuchungen möglich erscheinen, daß sie den Lysozymspiegel im Sinne eines Anstiegs beeinflussen. Weiterführende Untersuchungen sollten hier eine Klärung bringen.

Die fünf Neugeborenen mit Conjunctivitis zeigten besonders hohe Lysozymkonzentrationen. Der kleinste Lysishof lag hier bei 13 Millimeter = 20.000 µg/ml, der größte erreichte 20 Millimeter = $2{,}5 \times 10^6$ µg/ml. Bei den Untersuchungen mit augengesunden Neugeborenen kamen wir zu dem Ergebnis, daß kein Unterschied im Lysozymverhalten im Vergleich zu Erwachsenen zu finden war.
Bei den Neugeborenen mit Augenaffektionen (Tab. 13) läßt sich daher unschwer ein Anstieg des Lysozymspiegels registrieren, den die anderen Altersgruppen nicht aufweisen.

4.1. Untersuchungen bei Abstrich mit Wachstum von Staph. albus und Staph. aureus

Bei allen Patienten der Augenklinik wird einige Tage vor Operationsbeginn eine mehrfache Kontrolle der Conjunctiven durch einen Abstrich mit einer Platinöse vorgenommen, um das Keimwachstum auf ein pathologisches Geschehen zu untersuchen. Das mit der Öse gewonnene Material wird auf einem Blutagar ausgespatelt, 24 h bei 37 °C inkubiert und anschließend das Wachstum beurteilt.
Durch diese Methode ist aber nicht gewährleistet, daß man beim Abstrich auch wirklich eine ausreichende Materialmenge und einen geeigneten Materialquerschnitt der conjunctivalen Verhältnisse erhält.

Wir wollten untersuchen, ob mit unserer Testplättchenmethode über die Lysozymaktivität auch eine Aussage möglich sei, daß wir ein infiziertes Auge vor uns haben und ob der Keim pathogene Eigenschaften besitzt.

Über das Lysozym als Hilfe zur Identifizierung potentiell pathogener Keime bei Staphylokokken-Stämmen berichten GROSSGEBAUER, SCHMIDT und LANGMAACK 1968.

Leider konnten wir in dem erwähnten Untersuchungszeitraum von fünf Monaten lediglich vier Patienten mit Keimwachstum zu unserem Test heranziehen. Es handelte sich hierbei um zwei Patienten, bei denen sich das Wachstum von apathogenem Staph. albus herausstellte und um zwei weitere, bei denen allerdings der Staph. aureus wuchs (Tab. 14). Wie unsere Ergebnisse zeigen, waren die Lysishöfe der mit Staph. aureus befallenen Patienten um ca. 3 mm größer, als bei den Patienten mit Staph. albus. Wir erzielten in einem Fall 14 mm, was einem Konzentrationsanstieg von 1700 µg/ml normal, auf 40.000 µg/ml entsprach.

Bei der zweiten Testperson stieg der Lysozymspiegel vom Normalwert 1700 µg/ml auf 20.000 µg/ml an.

R. J. HOLT berichtet 1971, daß Staphylokokken, Typ aureus, in bezug auf die Lysozymproduktion eine stark positive Reaktion zeigten.
Für diese koagulase-positive Staphylokokken ist die Lysozymbildung eine stabile Eigenschaft (M. KUNZE 1972). Er fährt fort, daß es interessant sei, den Muramidase-(Lysozym-)Nachweis im Zusammenhang mit der Frage der potentiell pathogenen Staphylokokken zu klären.

Unsere vergrößerten Lysishöfe sind also in diesen Fällen auf den lysozymproduzierenden Staph. aureus zurückzuführen.

Mit diesem Verhalten unterscheidet er sich schon durch unseren Plättchentest vom apathogenen Staph. albus. Dennoch ist die Zahl unserer infizierten Patienten zu gering, um daraus eine zusätzliche Untersuchungsmethode zu Erkennung potentiell pathogener Keime abzuleiten.

Weitere Untersuchungen sollten sich anschließen, um hier eine Klärung zu bringen.

Bei den Patienten mit einem Lysozymaktivitätsanstieg nach Staph. aureus Infektionen konnten wir eine Zunahme der Konzentration nicht nur am infizierten Auge, sondern ebenfalls, wenn auch in geringerem Maße, am anderen Auge nachweisen.

4.2. Lysozymaktivität der Tränen bei Vermehrung der neutrophilen, polymorphkernigen Granulocyten, absolut

"Unter allen pathologischen Bedingungen, die mit Leucocytose einhergehen, ist der Lysozymgehalt parallel zur Vermehrung der Neutrophilen vermehrt", schreibt SCHUMACHER 1958. An anderer Stelle berichtet er, daß einige Forscher (HAUSMANN und PETTERSON), Veranlassung hatten, in den Leucocyten die Produktionszentren des Lysozyms im Organismus zu sehen. SCHUMACHER vermutet nun weiter, es spräche viel für die Annahme, daß wahrscheinlich die Granulocyten des Blutes als Bildungsort dieses Enzyms in den Gladulae lacrimalis zu betrachten seien. Diesen Schluß zieht SCHUMACHER aus folgenden Hinweisen:

"Bei starkem Tränenfluß fand er stets eine Lysozymkonzentrationsabnahme, ebenso bewirkt Atropin, welches die Tränendrüsensekretion inhibiert, eine Vermehrung des Lysozymgehalts in den Tränen. Bei Agranulocytose beobachtete er schwere Augenveränderungen und ferner nimmt Tränenlysozym nicht nach lokaler wohl aber nach i.m.-Cortisongabe ab. Beim Lysozym der Tränen handelt es sich also wohl doch um eine Anreicherung aus dem Blut."

Bei unseren eigenen Untersuchungen wollten wir klären, ob der hohe Lysozymgehalt des Serums und des Harns bei den Erkrankungen mit einer Vermehrung der neutrophilen, polymorphkernigen Granulocyten auch in der Tränenflüssigkeit anzutreffen ist und ob er mit der Leucozytenzahl in irgendeiner Weise korreliert.

Wir untersuchten fünf Patienten mit Polycythämia vera bzw. chronischer Myelose, die uns freundlicherweise von der Leukämiesprechstunde des Klinikum Steglitz (Leiter: Prof. Dr. H. Brücher) zur Verfügung gestellt wurden.

Die Lysishofdurchmesser lassen bei den Patienten mit Polycythämia vera und zwei Probanden mit chron. Myelose keine Ab-

weichung von den Werten Gesunder erkennen. Die Konzentrationen bewegen sich im Normalbereich (Tab. 15).

Zwei weitere Patienten mit chron. Myelose zeigen einen deutlichen Anstieg gegenüber unserem Normalwert von 1700 µg/ml. Wir fanden bei ihnen Konzentrationen von 20.000 µg/ml. Beide Patienten (B. H. und M. K.), hatten zu dieser Zeit Leucocytenwerte bei 150.000 (Tab. 15).

Bei einem Patienten (M. K.) mit chron. Myelose konnten wir eine Verlaufskontrolle vornehmen. Dieser Patient war unbehandelt gekommen und zeigte bei einer Leucocytenzahl von 150.000 und einem Neutrophilenanteil von 52 %, eine Lysozymkonzentration von 20.000 µg/ml Tränenflüssigkeit.

Im weiteren Verlauf der sich anschließenden Behandlung mit MYLERAN sank die Leucozytenzahl schon nach wenigen Tagen auf 130.000, das Lysozym auf 10.000 µg/ml und bei einer Leucocytenzahl von 80.000 betrug der Enzymgehalt noch 6.000 µg/ml. Nach 7 Wochen war die Zellzahl auf 9800 gesunken, liegt also im Normalbereich und der Lysozymgehalt der Tränen wurde mit 1900 µg/ml ebenfalls als im Normbereich liegend gemessen.

5.0. Diskussion

Wir haben mit unseren Untersuchungen eine Methode für die Erkennung sowie die Verlaufskontrolle von infizierten Augen gewinnen wollen, die sich ohne großen personellen und materiellen Aufwand in jeder Poliklinik und Praxis durchführen läßt. Dazu waren einige Voruntersuchungen mit Standardkonzentrationen nötig, um eine Beziehung zwischen den Lysishöfen und den Konzentrationsangaben herzustellen und um das Verhalten des Lysozyms, unter dem Einfluß verschiedener Temperaturen, zu prüfen.

Es zeigte sich in unseren Versuchsreihen, daß die Standardkonzentrationen zwar zum Teil gering unterschiedliche Ergebnisse bei der Lysis erbrachten, diese Schwankungen jedoch minimal waren.
Die Schwankungsbreite bei unseren Standardkonzentrationen betrug etwa $\pm$ 0,2 mm. Das bedeutet für den hauptsächlichen Meßbereich von acht bis zehn Millimeter eine Abweichung von $\pm$ 100 bis 300 µg/ml.

Bei den Versuchen mit verschiedenen Temperaturen sollte geklärt werden, ob der apparative Aufwand eines Inkubators nötig ist, um gut ablesbare Ergebnisse zu erzielen. Hier fanden wir nach 24 h keinen Unterschied zwischen den bei Zimmertemperatur bebrüteten und den Diffusionsplatten, die 32 ^{o}C ausgesetzt wurden.
Von Interesse war ferner, nach welcher Zeit sich bereits eine Lysis erkennen läßt und welcher Zeitraum nötig ist, um verwertbare Ergebnisse zu erhalten.

Schon nach sechs Stunden erzielten wir erkennbare Aufhellungen, die jedoch in vielen Fällen erst nach Abheben der Testplättchen vermeßbar waren.

Es fiel auf, daß die Lysis anfangs schnellere Fortschritte machte, als gegen Ende der Inkubationszeit. Nach 24 Inkubationsstunden bei Zimmertemperatur waren alle Höfe ablesbar, die Fläche zeigte stets fast kreisförmige Abmessungen.

Dennoch empfiehlt es sich, den Durchmesser doppelt zu messen

und den Mittelwert zu verwenden. 48 h bzw. 72 h Inkubationszeit erbrachten keine weitere Verbesserung und verzögerten die Ermittlung der Konzentrationen.

Sollte der Untersucher einmal nicht sofort die Platten bearbeiten können, so lassen sich die Lysishöfe auch noch nach Aufbewahrung bei Kühlschranktemperatur und anschließender Inkubation bei Zimmertemperatur erzielen.

Für unsere Untersuchungen an Augengesunden hatten wir 127 Probanden, also insgesamt 254 Augen zur Verfügung. Bei ihrer Auswahl wurden die Altersgruppen berücksichtigt.

Unsere Untersuchungsbefunde lassen erkennen, daß eine Abhängigkeit der Lysozymkonzentrationen vom Alter nicht gegeben ist (Abb. 3).
Beim Vergleich der Werte von Frauen und Männern war eine vermehrte Tendenz der weiblichen Individuen zu Konzentrationen im unteren Normbereich zu erkennen. Die Lysishofdurchmesser der männlichen Individuen bewegten sich dagegen prozentual am häufigsten im oberen Normbereich.
Insgesamt erzielten wir durch unsere Probanden einen mittleren Lysozymgehalt von 1700 µg/ml $\pm$ 600 µg/ml.

Da die meisten Probanden mit ihren Meßwerten sich zwischen neun und zehn Millimeter bewegten, setzten wir den Normbereich auf 1200 bis 2500 µg/ml fest.

Für den Untersuchungszeitraum zwischen 9 - 15 Uhr mußten wir klären, ob sich während dieser Zeit die Lysozymaktivität ändert. Dazu fertigten wir ein Tagesprofil an. Wir stellten einen circumdianen Rhythmus fest mit maximalen Konzentrationen in den Vormittagsstunden.
Wir überprüften weiterhin, inwieweit der Tränenlysozymspiegel beim selben Individuum während eines längeren Zeitraumes Schwankungen unterworfen ist.

Unsere Untersuchungen an zehn Personen, die wir zwei Monate lang überprüften, ergaben keine signifikanten Abweichungen von den Ausgangskonzentrationen bei gleichen Probanden.

Da Epiphora eine Senkung des Lysozymspiegels bewirken soll, er-

zeugten wir durch verschiedene Irritationsmittel einen starken Tränenfluß. Wir kamen zu dem Ergebnis, daß es einer sehr kräftigen Reizung bedarf, um eine Senkung der Lysozymkonzentration zu bewirken.

Die dreißig Augen, die uns für die Untersuchungen der Conjunctivitiden bei Erwachsenen zur Verfügung standen, konnten unsere Erwartung, daß eine Affektion des Auges auch mit einer Erniedrigung der Lysozymaktivität einhergeht, nicht bestätigen. Auch läßt die nur geringe Erhöhung des Lysozyms auf 1900 µg/ml bei Conjunctivitiden bei Erwachsenen nicht darauf schließen, daß in diesen Fällen eine unspezifische Abwehr mobilisiert wurde. Alle Patienten waren bereits medikamentös anbehandelt und Einfluß sowie Wirkungsmechanismus dieser Stoffe auf das Lysozym sind noch zu unklar, als daß man bereits etwas Abschließendes aussagen könnte.

Eine deutliche Erhöhung gegenüber ihrer augengesunden Vergleichsgruppe boten nur die zehn Neugeborenenaugen mit Conjunctivitiden. Bei den augengesunden Neugeborenen ging dem Lysozymtest eine Blutabnahme für das Bilirubin voraus. Der dadurch erzeugte Schmerz verstärkte den Tränenfluß.

Die Lysozymmenge wurde dennoch genauso hoch gefunden, wie bei anderen Altersgruppen, ohne daß diese einen vermehrten Tränenfluß zeigten (Tab. 1). Der Lysozymspiegel war bei der Gruppe mit Affektionen des Auges durchschnittlich 45mal so hoch, wie normalerweise (Normalwert: 1700 µg/ml, Neugeborene mit Conjunctivitis: 80.000 µg/ml), obwohl der Tränenfluß genauso stark war, wie bei der Neugeborenenvergleichsgruppe.

Dies bedeutet selbst dann noch eine deutliche Erhöhung der Enzymkonzentration, wenn man die in diesem Bereich sehr große Schwankung von ca. 10.000 µg/ml berücksichtigt.

Da zehn Augen keine endgültige Beurteilung erlauben, sollten Arbeiten mit einem größeren Kollektiv, bei denen auch der Verlauf während der Affektion kontrolliert wird, ergeben, inwieweit diese Methode als "screening-test" zur Erfassung von Augenaffektionen bei Neugeborenen, noch während der Wirkung des Arg.-nitr. 1 %, verwendbar ist.

Arg.-nitr. 1 % hatte, wie wir zeigen konnten, keinen Einfluß auf die Lysozymaktivität, erzeugte aber vorübergehend ein "Rotes Auge".
Eine Erhöhung des Lysozymspiegels erhielten wir auch bei zwei Patienten, deren Augen mit Staph. aureus infiziert waren.

Die Werte stiegen bis 40.000 g/ml an. Dagegen bewegten sich die Lysishofdurchmesser im oberen Normbereich oder sogar darüber bei den Patienten, deren Conjunct.-Abstrich Staph. albus aufwies.

Bei den mit Staph. aureus infizierten Patienten fiel auf, daß auch das nichtbefallene Auge eine deutliche Erhöhung der Lysozymaktivität zeigte, wenn auch nicht in so hohem Maße.

Verschiedentlich wurde geäußert, daß es sich beim Lysozymgehalt der Glandula lacrimalis wahrscheinlich um eine Anreicherung aus dem Blute handele.
Bei allen Krankheiten, die mit einer Vermehrung der neutrophilen, polymorphkernigen Granulocyten einhergehen, wurden besonders hohe Serummuramidase-(Lysozym-)Werte gefunden.

H. ASAMER berichtet über die diagnostische Bedeutung der Muramidase (MA)-Bestimmung im Serum und schreibt, daß diese besonders "in der Abgrenzung monocytärer, myelomonocytärer und promyelocytärer Leukämien mit erhöhter Leucocyten-, Serum- und Harn-MA von Stammzellenleukämien und akuten lymphatischen Leukämien mit erniedrigten Werten" - liege.

Aus diesem Grunde haben wir mehrere Patienten mit chronischer Myelose und Polycythämia vera untersucht, um festzustellen, ob auch hier ein veränderter Lysozymspiegel in der Tränenflüssigkeit nachzuweisen sei.

Bei diesen Patienten kontrollierten wir den Lysozymgehalt der Tränen und gleichzeitig das Differentialblutbild. Dabei wurde in den Tränen dieser Personen eine signifikante Erhöhung der Lysozym-(MA)-Konzentration gefunden.

D. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird über die Untersuchungen des Tränenlysozyms mit einem für die Praxis geeigneten Verfahren berichtet und der Versuch unternommen, diese Methode als "screening-method" bei Augenaffektionen, wie Conjunctivitiden oder anderen Infektionen zu testen.

Es werden die Abhängigkeit der Lysozymaktivität von der Inkubationstemperatur und der Inkubationszeit untersucht. An 127 Augengesunden, also 254 Augen, wird die Altersabhängigkeit überprüft. Als Probanden standen Patienten von weniger als einem Jahr bis zum achten Dezenium zur Verfügung. An einem anderen Kollektiv wird überprüft, ob das Tränenlysozym einen circumdianen Rhythmus aufweist.

Wir berichten über den Lysozymgehalt der Tränen bei verschiedenen Irritationen und über die Reproduzierbarkeit der Werte am gleichen Kollektiv im Abstand von einigen Wochen.

Außerdem wird das Lysozymverhalten bei Probanden mit Augenaffektionen untersucht, d. h. bei Conjunctivitiden und bei Patienten, bei denen im Conjunctival-Abstrich Staph. albus oder Staph. aureus gefunden wurden.

Anschließend berichten wir über die Lysozymkonzentrationen bei Patienten mit leukämischen Blutbildern (chron. Myelose, Polycyt. vera), die mit einer Vermehrung der neutrophilen, polymorphkernigen Granulocyten verbunden sind.

E. Literaturverzeichnis

Alderton, G.
Fevold, H. L.
Direct crystallisation of lysozyme from eggwhite und some crystalline salts of lysozyme.
J. biol. chem. 164, 1-5 (1946)

Allansmith, M. R.
Daniel, M. D.
Anderson, R. P.
Newman, L.
Comparison of electrophoretic mobility of tear lysozyme in 50 subjects.
Am. J. Ophth. Vol. 71, No. 2 (1971)

Asamer, H.
Schmalzl, F.
Braunsteiner, H.
Die diagnostische u. progn. Bedeutung d. Muramidase-(Lysozym-)Bestimmung in Leucozytenlysaten, Serum u. Harn v. Leucämiepatienten.
Klin. Wschr. 10, 587-593 (1971)

Asamer, H.
Die Bedeutung der Muramidase-(Lysozym-) Bestimmung für die Leucämiediagnostik.
Dtsch. med. Wschr. 96, 829-830 (1971)

Averyanova, L. L.
Tetracycline effect of lysozyme levels in blood serum of rabbits and saliva of human beings.
Ac. Med. Sc. USSR, No. 1, c. 38 (1964)

Bonavida, B.
Sapse, A. T.
Human tear lysozyme I. Purification, physicochem. and immunochem. characterization.
J. lab. Clin. Med. vol. 70, No. 6, 951-962 (1967)

idem
Human tear lysozyme II. Quantitative determination with standard Schirmer strips.
Am. J. Ophth. vol. 66, No. 1 (1968)

idem
Human tear lysozyme. III. Preliminary study on lysozyme levels in subjects with smog eye irritation.
Am. J. Ophth. vol. 66, No. 1 (1968)

del Buotto, G.
Acocella, M.
Untersuchungen über das Verhalten des Lysozyms in d. Tränenflüssigkeit u. im Serum bei verschiedenen Augenkrankheiten.
Giorn. ital. oft. 9, 574-592 (19)

Caselli, P.
Schumacher, H.
Über den Nachweis des Tränenlysozyms mittels Mikroelektrophorese.
Klin. Mbl.,Augenhk. 124, 148-154 (1954)

Chipman
Sharon
Mechanism of lysozyme action.
Science vol. 165, 454-465 (1969)

Coffin, G. S.
Hook, W. A.
Antibacterial substances in placentas and serums of mothers and newborn infants.
Proc. Soc. exp. Biol. 104, 239 (1960)

Canfield, R. E.
The amino acid sequence of eggwhite lysozyme.
J. Biol. Chem. 238, 2698 (1963)

Eagon
Carson
Lysos of cell walls and intact cells of pseudomonas aeruginosa by ethylene-diamine tetraacetic acid and by lysozyme.
Can. J. Microbiol. 11, 193-201 (1965)

Mc.Ewen
Kimura
Lysozym und seine Beziehung zur Keratoconj. sicca.
Am. J. Ophth. 39, 2, 200-205 (1955)

Fleming, Alexander
On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions.
Proc. roy. soc. B. 93, 306-317 (1922)

Großgebauer, K.
Pohle, H. D.
Langmaack, H.
Vermehrtes Auftreten von Lysozym im Liquor u. Urin bei Fällen v. Meningitis.
Klin. Wschr. 46 J., 21, 1127-1131 (1968)

idem
Lysozyme, Ergebnisse und Probleme.
Klin. Wschr. 46 J., 21, 1121-1127 (1968)

Gesteland et al.
In vitro synthesis of T4 lysozyme by suppression of amber mutations.
Proc. Nat. Acad. 58, 2031 (1967)

Hartsell, S. E. The newer knowledge of lysozyme and bacteria. Proc. Ind. Acad. Sci. 57, 44-53 (1948)

idem The lysozyme spectrum of the gramnegative bacteria. J. Inf. Dis. 95, 75-81 (1954)

Holt, R. J. Lysozyme production by staph. and micrococci. J. Microbiol. 4, 375-379 (1971)

Jollès La structure chemique du lysozyme de blanc d'œuf de poule: étude d'étaillée. Biochem. Biophys. Acta 78, 668 (1963)

Kawase Naruke Lysozym in den Tränen. Jap. J. Phth. 10 Zblt. Augen 97, 474 (1966/67)

Kunze Nachweis der Staph. Muramidase. Zblt. Bact. Hyg., I. Abt. Orig. A. 219, 50-55 (1972)

Mohrig Messner Lysozym als antibakterielles Agens im Bienenhonig u. Bienengift. Acta Biol. Med. Germ., 21, 85-95 (1968)

Osserman Lawlor Serum and urinary lysozyme(muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia. J. exp. Med. 124, 921 (1966)

Phillips, D. C. et al. Purifictaion of bacterophage T4 lysozyme. Nature 206, 761 (1965)

Regan, E. The lysozyme content of tears. Am. J. Ophth. 33, 600-605 (1950)

Schumacher, H. Neue Erkenntnisse über die Biochemie des Lysozyms und ihre klinische Bedeutung für die Augenheilkunde. Fortschr. Augenheilk., Vo. 18, 142-211 (1958)

Thompson, R. Lysozyme and its relation to the antibacterial properties of various tissues and secretions. Arch. Path. 30, 1096-1134 (1940)

Tsugita, et al. Purification of bacterophage T4 lysozyme. J. Biol. Chem. 243, 39 (1968)

Wolff, L. K. Untersuchungen über das Lysozym. Zschr. Immunforsch., 50, 88-100 (1927)

F. Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

Tabelle	Titel	Seite
Nr. 1	Augengesunde Patienten unter Berücksichtigung des Alters	31 32
Nr. 2	Testreihe mit Standardkonzentrationen	33
Nr. 3	Temperaturabhängigkeit der Lysis (24^{o}, 32^{o})	34
Nr. 4	Abhängigkeit der Lysis von der Inkubationszeit	34
Nr. 5 Nr. 6	Einfluß des Arg.-Nitr. 1 % auf die Lysozymaktivität	35
Nr. 7	Vergleich zwischen weiblichen und männlichen Individuen	36
Nr. 8	Tagesprofil der Enzymaktivität	37
Nr. 9	Lysozymkonzentration der Tränen unter dem Einfluß verschiedener Irritationsmittel	38
Nr. 10	Lysozymgehalt nach Tränengasirritation	39
Nr. 11	Die Enzymaktivität von li und re Auge der selben Patienten bei Kontrollen in einem Zeitraum von zwei Monaten	40
Nr. 12	Die Lysozymkonzentrationen bei Conjunctivitispatienten	41
Nr. 13	Die Lysozymkonzentration bei Neugeborenen mit Conjunctivitiden	42
Nr. 14	Die Lysozymaktivität der Tränen bei Patienten mit Staph. aureus und Staph. albus im Conjunctivalabstrich	43
Nr. 15	Ergebnisse der Lysozymkonzentration der Tränen bei leukämischen Patienten	43

Abbildung	Titel	Seite
Abb. 1	Die verwendete Diffusionsplatte mit den ausgebildeten Lysishöfen	44
Abb. 2	Graphische Darstellung der Lysishofdurchmesser in Abhängigkeit von der Enzymkonzentration	45
Abb. 3	Die Lysishofdurchmesser im Vergleich der Altersgruppen	46
Abb. 4	Gegenüberstellung der erzielten Lysishofdurchmesser bei Frauen und Männern	47
Abb. 5	Vergleich der Lysishöfe der Altersgruppen 1. jünger als 1 Jahr 2. jünger als 24 Jahre 3. älter als 24 Jahre	48
Abb. 6	Die Lysishöfe bei Augengesunden und Patienten mit Conjunctivitiden	49

NAME	ALTER	Ø (mm)		Name	Alter Jahre	Ø (mm)		NAME	ALTER Jahre	Ø (mm)	
		RA	LA			RA	LA			RA	LA
V. B. m	10 Tage	9.5	10.0	Sch. M. m	18	10.5	10.5	Th. R. m	26	9.0	9.0
St. U. f	17	9.0	9.0	K. W. m	19	11.0	10.5	K. C. f	32	9.0	9.0
K. S. m	12	10.5	9.5	F. M. f	14	9.0	9.0	J. B. m	34	9.0	9.0
G. J. m	4	10.0	10.0	R. H. m	12	18.5	18.0	H. E. f	31	9.0	9.0
B. B. f	3	10.5	10.5	Sp. H. m	12	8.5	9.0	Sch. L. m	30	10.0	10.0
A. U. f	2	10.0	10.5	Sp. C. f	18	8.0	8.0	S. B. m	31	7.0	7.5
W. M. m	3	10.5	10.5	F. L. m	28	9.0	9.0	H. L. m	32	8.0	8.0
W. K. m	2	9.5	9.5	Sch. E. m	24	10.0	10.5	L. K. m	33	11.0	11.0
K. U. m	4	11.5	11.5	J. P. m	23	9.5	9.0	M. A. m	30	10.0	10.0
B. S. f	11	8.5	8.5	K. A. m	22	9.0	9.0	E. J. f	39	11.0	11.0
R. J. m	5	10.0	10.0	Sch. H. m	24	10.0	10.0	Sch. H. m	35	8.5	8.5
Sch. L. f	3	10.0	10.0	H. K. f	24	9.0	9.5	T. B. m	36	9.0	9.0
B. N. f	6 Jhr.	9.0	9.0	A. K.-P. m	29	9.5	9.0	T. T. m	31	10.0	10.0
B. U. m	9	10.0	10.0	G. G. f	25	10.0	10.0	K. H. m	48	10.0	10.0
A. B. m	6	9.0	9.0	F. B. m	29	10.0	10.0	St. Ch. f	49	9.0	9.0
A. S. f	4	9.0	9.5	H. K. f	23	10.0	10.0	P. E. m	48	11.0	11.0
N. N. f	6	10.0	10.0	S. J. f	26	9.0	9.0	J. D. f	49	10.0	9.5
N. W. f	6	9.0	9.0	M. W. m	20	9.0	9.0	M. S. m	46	10.5	10.0
S. L. f	5	10.0	10.0	H. F. m	27	10.0	10.0	B. S. f	48	10.0	10.0
M. D. m	6	9.0	9.0	S. M. f	27	10.0	10.0	Ch. J. m	46	9.5	10.0
U. T. m	7	10.0	10.0	K. P. m	28	9.0	9.0	P. H. m	49	10.5	10.0
St. P. m	11	11.0	11.0	St. L. m	24	11.0	11.0	K. H. f	46	9.0	9.0
J. B. m	11	11.0	11.0	M. L. m	24	9.0	9.0	H. K. m	44	9.5	9.5
K. Ch. m	12	11.0	11.0	W. A. f	22	8.0	8.0	L. L. m	47	9.0	9.0
W. M. m	13	10.0	10.5	R. H. f	20	10.0	10.0				

Tab. 1 Augengesunde Patienten ohne Berücksichtigung des Alters

NAME		ALTER (Jahre)	Ø mm RA	Ø mm LA	NAME		ALTER (Jahre)	Ø mm RA	Ø mm LA	NAME		ALTER (Jahre)	Ø mm RA	Ø mm LA
L. M.	f	47	9.0	9.0	D. E.	f	63	9.0	9.0	H. F.	f	86	10.0	10.0
H. V.	f	48	10.0	10.0	S. T.	f	62	8.0	8.0	Sch. H.	m	81	11.0	11.0
K. D.	f	46	8.0	8.0	R. Ch.	f	62	9.0	9.0	B. B.	f	84	10.0	10.0
Sch. E	m	41	9.0	9.0	L. M.	f	65	10.5	9.5	G. E.	f	83	8.0	8.0
K. P.	m	57	9.0	9.0	Sch. J.	f	68	10.0	10.0	H. E.	f	82	8.0	8.0
O. H.	m	59	10.5	10.0	T. H.	f	62	8.5	8.5					
K. B.	m	59	7.0	7.0	G. E.	f	73	9.0	9.0					
L. H.	m	56	9.0	9.5	K. O.	m	73	9.0	9.0					
K. M.	f	52	10.0	10.5	B. A.	f	71	10.0	10.0					
M. S.	m	58	9.5	9.0	K. U.	f	76	9.5	9.0					
S. K.	f	58	11.0	11.0	D. A.	f	71	8.0	8.5					
B. T.	f	56	9.0	9.5	Sch. R.	m.	74	10.0	10.0					
B. H.	f	58	10.0	10.0	B. L.	f	71	9.0	9.0					
J. R.	m	57	8.0	8.0	K. E.	f	71	8.0	8.5					
J. U.	f	51	9.0	9.0	B. H.	m	71	8.0	8.0					
K. F.	m	66	10.0	10.0	Sch. L.	m	70	10.0	10.0					
R. E.	m	60	10.0	10.0	B. V.	f	72	9.5	9.5					
S. M.	m	64	9.0	9.0	R. B.	m	80	9.0	9.0					
St. A.	m	67	9.0	9.0	H. E.	m	80	8.0	8.0					
N. H.	m	65	10.0	10.0	B. M.	m	80	10.0	10.5					
G. H.	m	69	10.5	10.0	N. H.	m	86	10.0	10.0					
K. H.	f	66	9.5	9.5	B. U.	f	81	10.0	10.0					
S. D.	m	62	10.5	10.5	B. Th.	f	84	11.0	11.0					
B. Th.	f	63	9.0	9.0	G. H.	m	82	13.0	12.0					

Tab. 1 Augengesunde Patienten unter Berücksichtigung des Alters

	1	2	3	4	5
µg / ml	5000	2500	1250	625	312
I Tag	12	11	10	9	8
II "	11	10	9	8	7
III "	11	10	9	8	7
IV "	10.5	9.8	8.6	7.0	6.5
V "	11.0	10.2	9.0	8.0	7.0
$\sum$ Ø(mm)	55.5	51.0	46.6	40.0	35.5
Mittelw. (mm)	11.1	10.2	9.3	8.0	7.1

Tab. 2 Testreihe mit Standardkonzentrationen

Ink. Zimmertemp. (24°C)

Pl. Nr.	1	2	3	4	5	re A	li A	St
ø	11	10	9	8	7	10.5	10.2	11
µg/ml	5000	2500	1250	625	312	3500	2800	5000

Ink. 32 C

Pl. Nr.	1	2	3	4	5	re A	li A	St
ø (mm)	11	10	9	8	7	10	10	11
µg/ml	5000	2500	1250	625	312	2500	2500	5000

Ink. 24°C nach 24 h Kühlschr.

	1	2	3	4	5	re A	li A	St
ø (mm)	11.0	10.5	9.4	8.2	7.0	10.8	10.6	11.0
µg/ml	5000	3500	1600	700	312	4200	3800	5000

Pl.-Nr.	St	1	2	3	4	5	re A	li A	IZ
ø- (mm)	11	6.5	4	3	2.5	2	6	6.5	6h
		11	10	9	8	7	11	10.5	24h
		13	11.5	10	9	8	13.5	13	48h
		19	17	15.5	14	13	18	17	72h

Tab.3 Temperaturabhängigkeit der Lysis (24°, 32°C)
Tab.4 (unten) Abhängigkeit der Lysis von der Inkubationszeit

ohne Arg. - nitr. 1%

Proband	1	2	3	4	5	6	7	St. 5000 µg/ml
Ø (mm)	21.5	16.0	16.0	10.0	7.0	7.0	10.0	11
Konz. µg/ml	$7,5 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^5$	10000	2500	312	312	2500	5000

mit Arg. - nitr. 1%

Proband	1	2	3	4	5	6	7	St. 5000 µg/ml
Ø (mm)	19.0	17.0	12.0	10.0	6.5	7.0	10.5	"
µg/ml	$1,3 \cdot 10^6$	$3,4 \cdot 10^5$	10.000	2500	220	312	3500	5000

Tab. 5 u. 6 Der Einfluß des Arg.-Nitr. 1% auf die Cytomegalie

Augengesunde

	female		male		Enzym-Konzentr.
⌀ mm	n	%	n	%	µg / ml
7.0 - 7.9			4	2.7	312 - 600
8.0 - 8.9	21	19.4	11	7.5	625 - 1000
9.0 - 9.9	40	37.0	52	35.6	1250 - 2400
10.0 - 10.9	41	37.9	60	41.1	2500 - 4700
⩾11	6	5.5	19	13.0	⩾ 5000
∑	108		146		

Tab. 7 Vergleich zwischen weiblichen und männlichen Individuen

	µg/ml				µg/ml				µg/ml			
	13h	16h	19h	D	22h	1h	4h	D	7h	10h	St	D
1	1700	1700	1250	1500	1250	2500	900	1340	1700	2500		2000
2	900	1250	900	950	900	3500	900	1340	5000	2500		3500
3	625	450	625	540	900	900	3500	1340	312	1700		720
4	5000	1700	1700	2500	1700	1700	2500	1900	1700	2500		2000
5	900	450	312	470	900	900	1700	1100	1700	1700		1700
6	625	900	900	770	1250	1250	625	770	3500	2500		2000
7	900	1250	1250	1100	1700	1250	2500	1700	1700	1700		1700
8	1250	625	625	770	2500	3500	7000	3790	1700	2500	3500	2000
D	1100	625	625	1060	1250	1650	1650	1430	1650	2200		1900
	800				1500				1900			

Tab. 8 Tagesprofil der Enzymaktivität

	Zwiebel		Rauch		Bisolvon-1%			Bisolvon-2%		
	0-Wert	5'	0-Wert	5'	0-Wert	5'	1 h	0-Wert	5'	1 h
1	1700	1700	2500 2500	1700 1700	1200	1200	1200	1200	1200	1700
2	2500	2500	2500 3500	2500 3500	2500	1700	1700	2500	2500	2500
3	1200	1200								
4	1700	1200	2500 2500	625 625	1200	1700	1700	1700	1200	1200
5	1200	1200	2500 2500	1700 1700						
6	625	900			625	625	625	625	625	625
7	625	625			625	625	900	900	900	900
8	2500	2500	2500 2500	1200 1200	2500	3500	3500	3500	3500	3500
St	4500		5000		5000			4500		

Tab.9 Lysozymkonzentration der Tränen unter dem Einfluß verschiedener Irritationsmittel

Irritation	ohne Tränengas		mit Tränengas	
Name	RA	LA	RA	LA
H. T.	2.500	2.500	2.500	1.200
K.	5.000	2 500	2.500	2.500
Pu.	10.000	7.000	2.500	1.700
Pi.	2.500	1.200	1.200	625
M.	625	625	625	625
W. J.	5.000	5.000	3.500	2.500
St.	5.000			

Tab. 10 Lysozymgehalt nach Tränengasirritation

Zeitraum / Proband	Lysisdurchmesser O (mm)									
	1 Woche		2 Woche		3 Woche		4 Woche		8 Woche	
	RA	LA	RA	LA	RA	LA	RA	LA	RA	LA
1	10.0	10.0	9.5	10.0	10.5	10.5	10.0	10.0	9.5	10.0
2	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	8.5	8.0	9.0	9.0
3	8.0	8.0	8.5	8.0	8.0	8.0	8.0	8.5	8.5	8.5
4	9.5	9.5	9.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0	10.0
5	9.5	9.5	9.5	9.5	9.0	9.5	9.0	9.5	9.0	9.5
6	11.0	10.0	11.0	10.5	11.0	10.5	11.0	10.5	10.5	10.5
7	9.0	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	8.5	9.0	9.0
8	9.0	9.0	9.0	10.0	9.0	9.5	9.5	9.5	9.5	9.5
9	8.0	8.0	8.5	8.0	8.5	8.5	8.0	8.0	8.0	8.0
10	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.5	8.0	8.0	8.0	8.0
D	9.1	8.95	9.5	9.15	9.25	9.35	9.05	9.05	9.10	9.20

Tab. 11 Die Enzymaktivität von li und re Auge derselben Patienten bei Kontrollen in einem Zeitraum von zwei Monaten

Conjunctivitiden (Dc=9.63) St_1= 11.0; 10.5

Name	Affektion		anbe-handelt	Lysis durchmesser		Konzentration µg/ ml	
				re A	li A	re A	li A
Sch. E.	conj. allerg.	re	X	8.0	7.5	625	450
M. S.	conj. epi.	re	X	8.5	8.0	900	625
B. R.	conj. epi.	re+li	X	11.0	11.0	5000	5000
B. L.	conj. epi.	re+li	X	11.0	11.0	5000	5000
Th. K.	chron. conj.	li	X	10.0	7.5	2500	450
Sch. A.	chron. conj.	re	X	9.0	9.0	1250	1250
G. B.	chron. conj.	re	X	8.0	8.0	625	625
W. T.	akute conj.	li	X	7.0	8.0	312	625
E. A.	conj. epi.	li	X	10.0	11.5	2500	7000
F. K.	conj. epi.	re	X	11.0	11.0	5000	5000
G. R.	conj. epi.	li	X	11.0	11.0	5000	5000
Sch. W.	conj. epi.	li	X	9.5	9.0	1700	1250
R. S.	conj. epi.	li	X	9.0	10.5	1250	3500
S. P.	chron. conj.	li	X	13.0	12.0	$2 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$
K. H.	Herpes+Begleitconj.	li	X	9.0	9.0	1250	1250
D				9.66	9.6	1974	1893

Tab.12 Die Lysozymkonzentrationen bei Conjunctivitispatienten

Neugeborene mit Conjunktividen

Name	Affektion	anbe-handelt	Ø (mm) re A	Ø (mm) li A	µg/ml re A	µg/ml li A
K.F.	akute conj. re	X	13.0	13.0	$2 \cdot 10^4$	$2 \cdot 10^4$
B.R.	akute conj. re	X	16.0	16.0	$1,6 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^5$
G.M.	conj. epi. li	X	19.5	20.0	$1,9 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6$
W.J.	conj. epi. re	X	14.0	15.0	$4 \cdot 10^4$	$8 \cdot 10^4$
P.W.	akute conj. re li	X	12.0	12.0	$1 \cdot 10^4$	$1 \cdot 10^4$

Tab.13 Die Lysozymkonzentration bei Neugeborenen mit Conjunctivitiden

Name	Keim	St	µg/ml	
			RA	LA
Sch. J.	Staph. albus	5000	3800	2500
H. K.	"		2500	2800
K. J.	Staph. aureus	5000	40000	40000
R. B.	"	5000	10000	9000

Tab. 14 Die Lysozymaktivität der Tränen bei Patienten mit Staph.aureus und Staph.albus im Conjunctivalabstrich

Name	Affektion	Leucocyten	St	µg/ml	
				RA	LA
G. H.	P. Vera	34900	5000	1250	1250
Sch. F.	chron. Myelose	9600		1700	2500
B. H.	"	150000	5000	20000	20000
M. K.	"	156000		20000	20000
M. K.	"	130000	4800	10000	10000
M. K.	"	80400	5000	9600	7000
M. K.	"	9800	5000	2500	1250
N. M.	"	24500	5000	1700	3500

Tab. 15 Ergebnisse der Lysozymkonzentration der Tränen bei Leukämischen Patienten

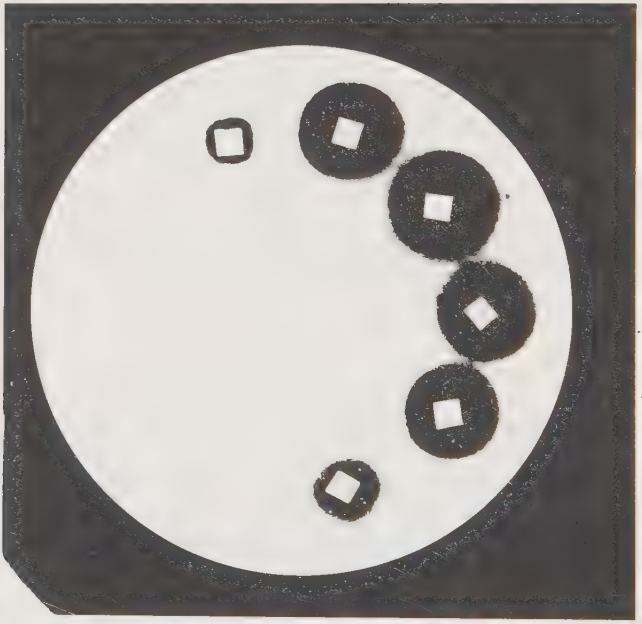
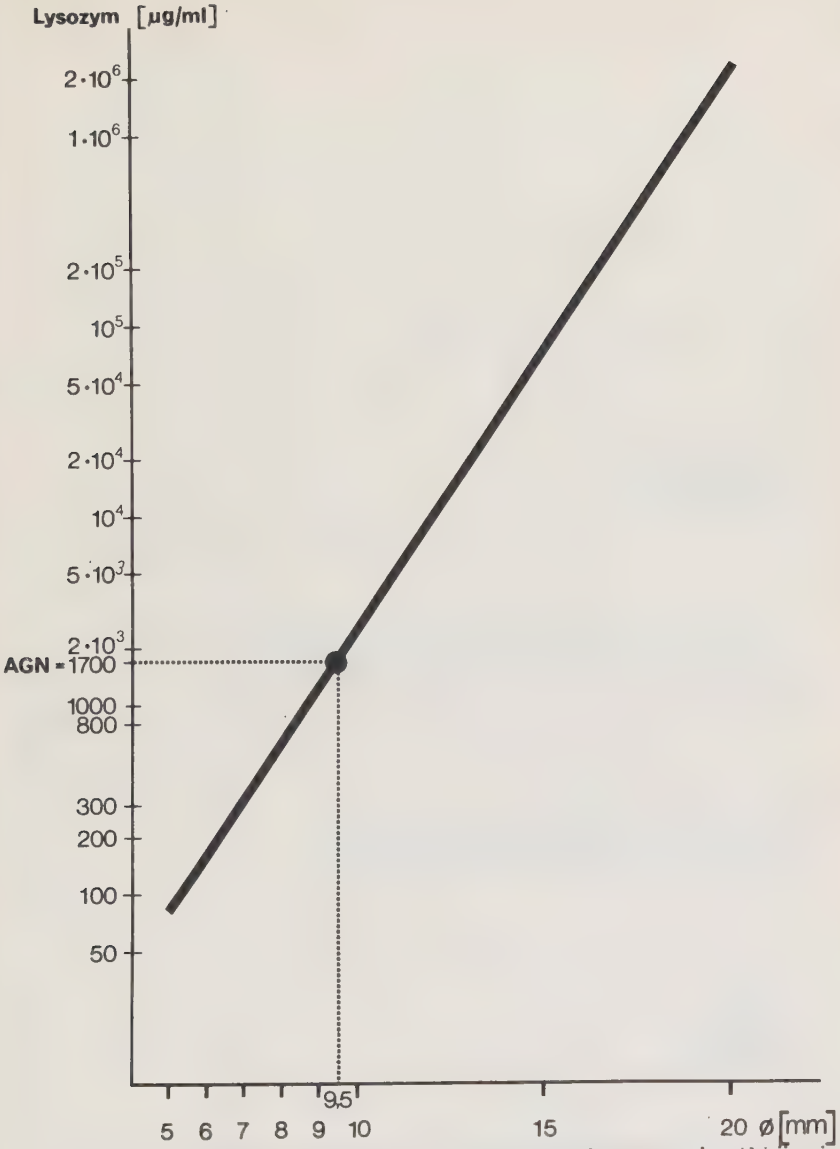


Abb. 1 Die verwendete Diffusionsplatte mit den ausgebildeten Lysishöfen



Graphische Darstellung der Lysishofdurchmesser in Abhängigkeit von der Enzymkonzentration

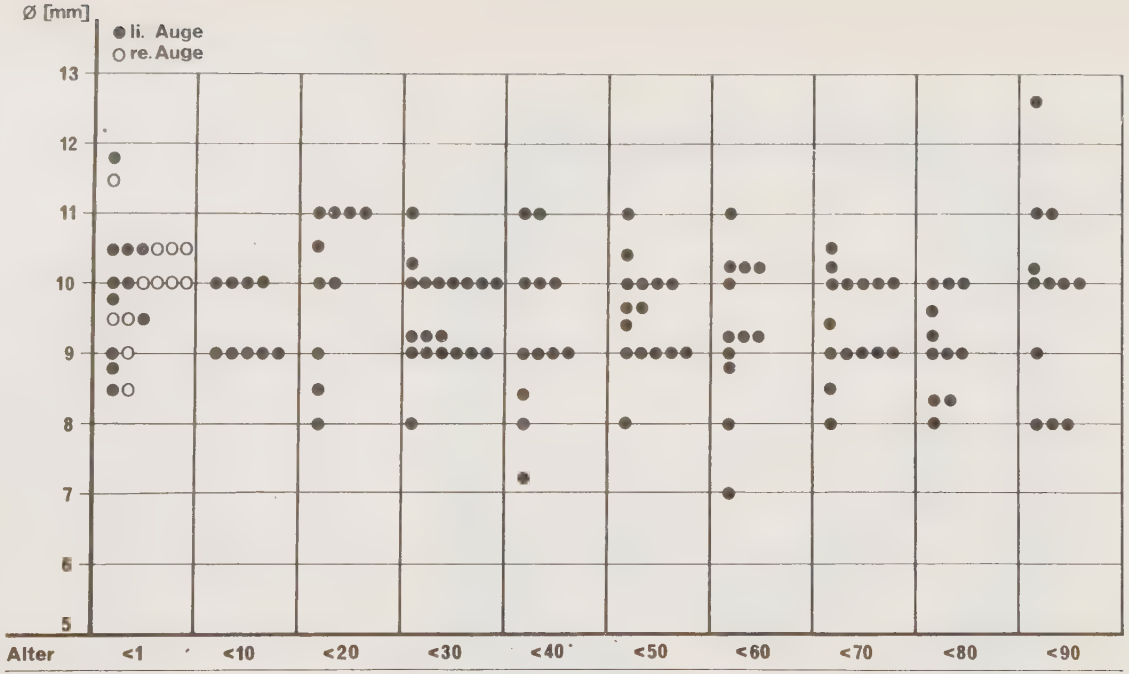


Abb. 3 Die Lysishofdurchmesser im Vergleich der Altersgruppen

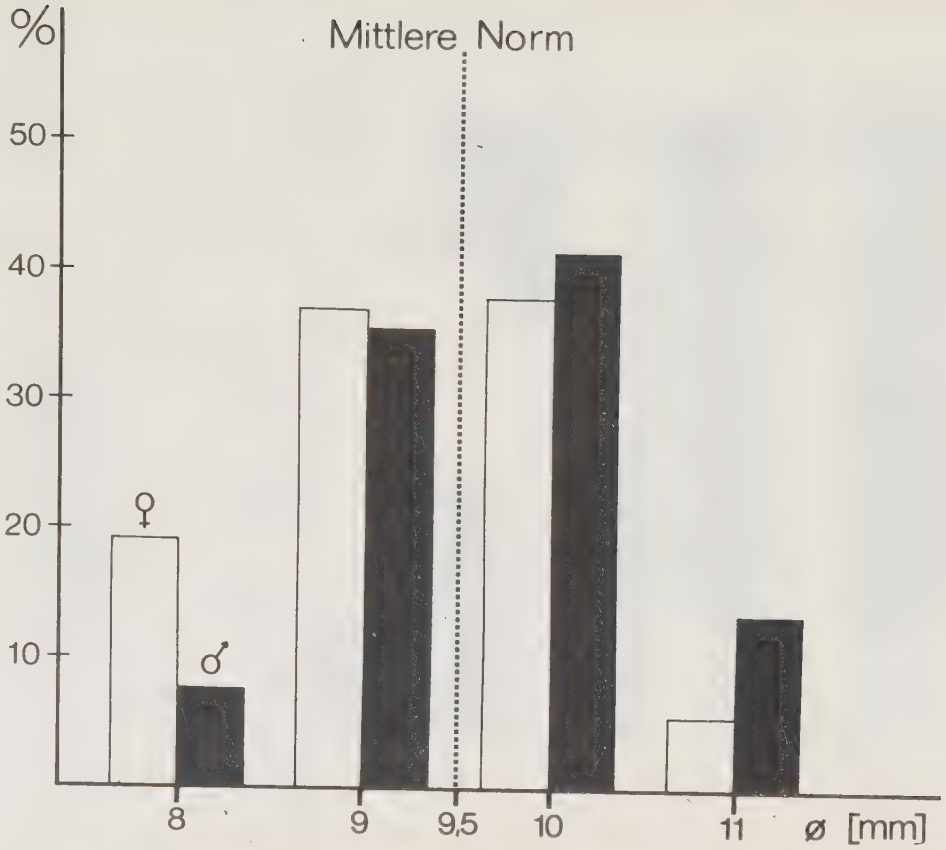


Abb. 4 Gegenüberstellung der erzielten Lysishofdurchmesser bei Frauen und Männern

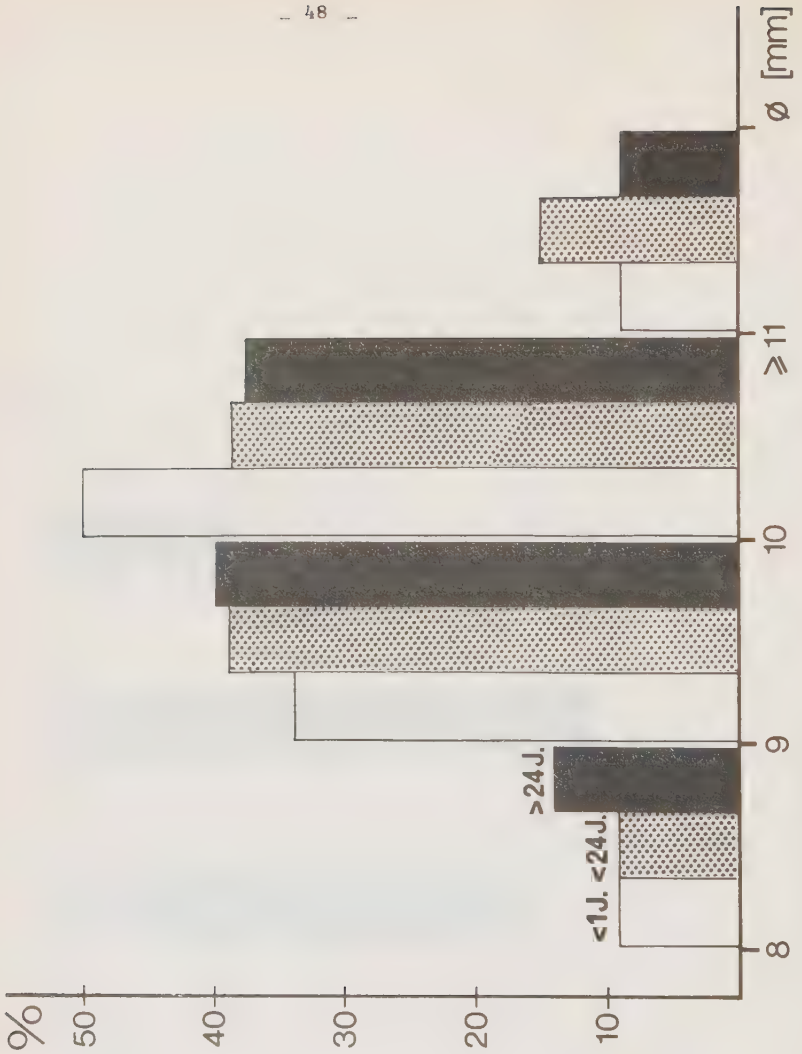


Abb. 5 Vergleich der Lysishöfe der Altersgruppen

1. jünger als 1 Jahr
2. jünger als 24 Jahre
3. älter als 24 Jahre

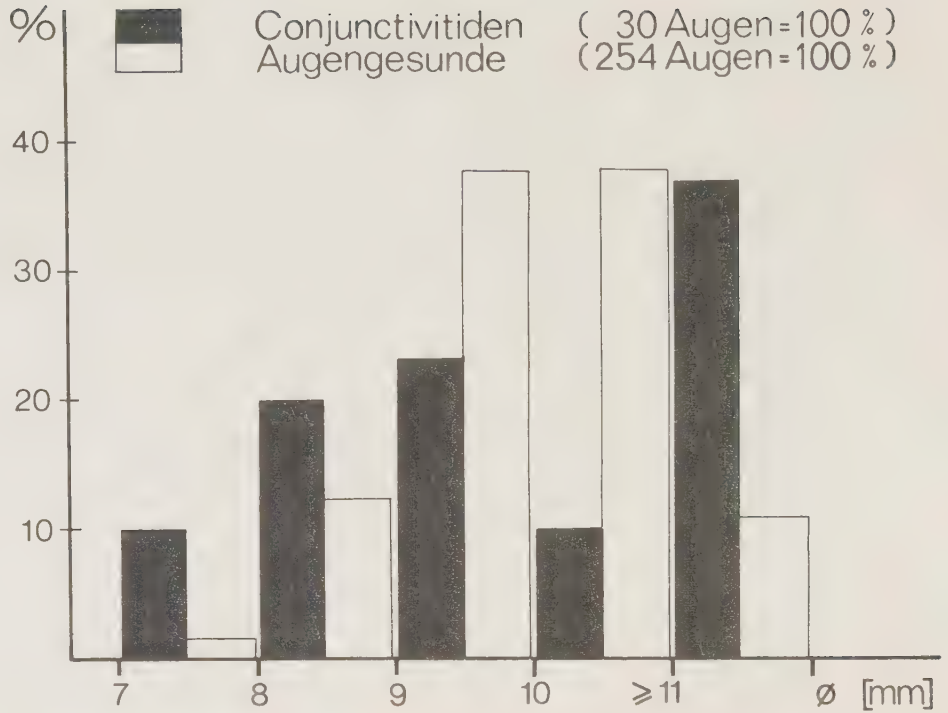


Abb. 6 Die Lysishöfe bei Augengesunden und Patienten mit Conjunctivitiden

Für die Überlassung des Themas, die immer freundliche Unterstützung und viele gute Ratschläge bei der Durchführung dieser Arbeit möchte ich Herrn Professor Dr. med. H. Tiburtius herzlich danken.

Berlin, 20. Oktober 1973

Wolfgang Janke

1 Berlin 46
Brieger Straße 4

L e b e n s l a u f

Name:	Wolfgang Janke
geboren:	30.8.1945 in Leipzig
1952	Einschulung in die Marienfelder Grundschule
1958	Umschulung in die Ulrich-von-Hutten-Oberschule Neusprachliches Gymnasium
1960	Luise-Henriette-Gymnasium Mathematisch-naturwiss. Zweig
1966, März	Abitur
1966, November	Immatrikulation an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin
1967, September	Naturwissenschaftliche Vorprüfung (FU Berlin)
1970, Februar	Ärztliche Vorprüfung (FU Berlin)
1973, August	Ärztliche Prüfung (FU Berlin)
1973, Oktober	Medizinalassistent an der chirurgischen Abteilung des Wenckebach-Krankenhauses (Chefarzt Dr. Kussin)